

INTRODUCCIÓN DE ESPECTROS DE NUEVOS FLUOROCROMOS

INTRODUCCIÓN DE ESPECTROS DE NUEVOS FLUOROCROMOS

Hay varias formas de cargarlos:

1. puedes hacer un "lambda scan" y salvar el espectro desde el menu Process-->Dye separation-->Spectral-->Save current spectrum. Luego le podrás asignar el fluorocromo desde el menú Configuration --->Dyes.

La única pega del lambda scan es que si no sabes la longitud de onda de excitación tienes que probar con varias.

2. Es muy operativo utilizar la información de espectro que suelen proveer los fabricantes, por ejemplo en esta dirección tienes todos los espectros de los marcadores de molecular probes:

<http://tools.invitrogen.com/search/index.cfm?searchterm=%23&fuseaction=search.simplesearch&navFilter=category:Spectra>

<http://tools.invitrogen.com/search/index.cfm?searchterm=%23&fuseaction=search.simplesearch&navFilter=category:Spectra>


Para examinar la de cada fluorocromo tienes que seleccionarlo y sales a esta pantalla (por ejemplo, para el alexa 405):

<http://www.invitrogen.com/site/us/en/home/support/Product-Technical-Resources/Product-Spectra.31553p72.html>

Selecciona el link que te sale abajo:

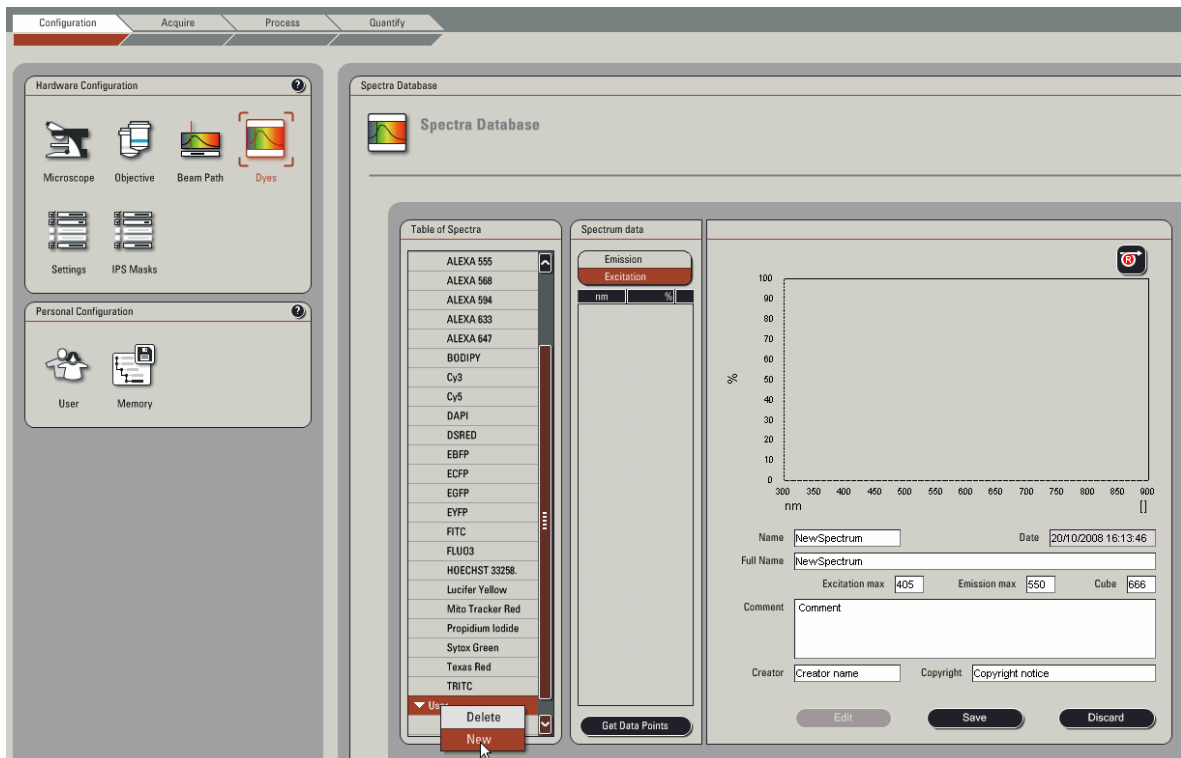
.....

View the data points for this spectra NOTE
[Product Spectra - Alexa Fluor 405 goat anti-mouse IgG antibody/pH 7.2](#)

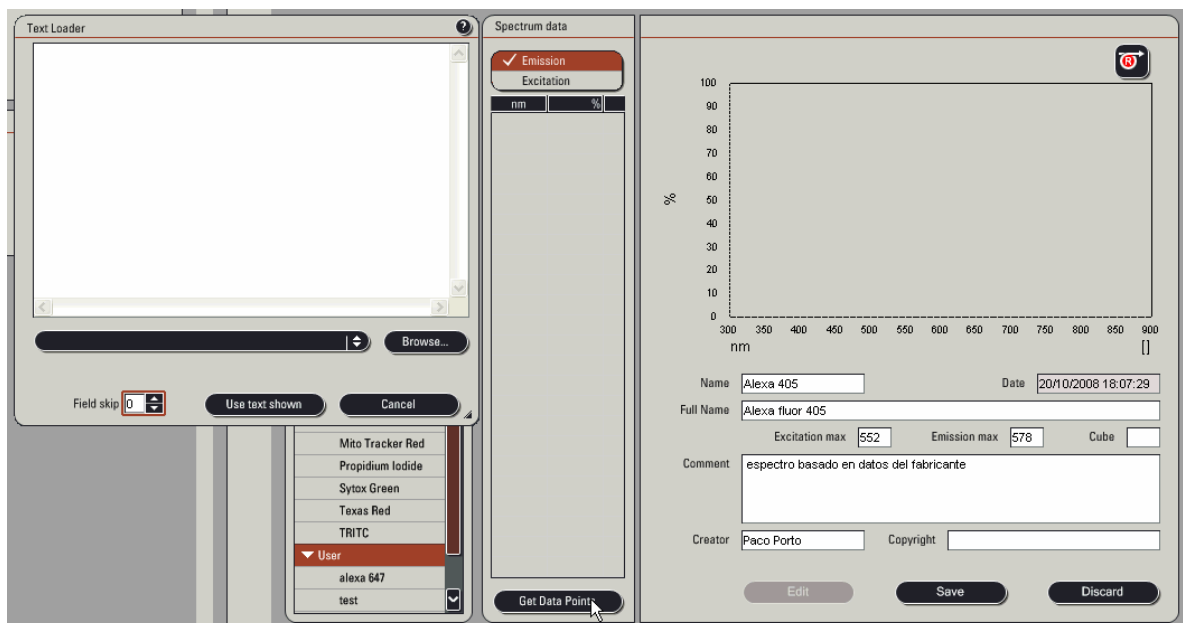


El sistema mostrará un listado de datos (longitud de onda, absorción, longitud de onda, emisión) que corresponde a los valores de absorción y emisión de fluorescencia. Salva el fichero (en internet explorer es con Archivo-->salvar como) con el nombre que quieras (normalmente el formato será un fichero txt. Por ejemplo "Alexa 405.txt")

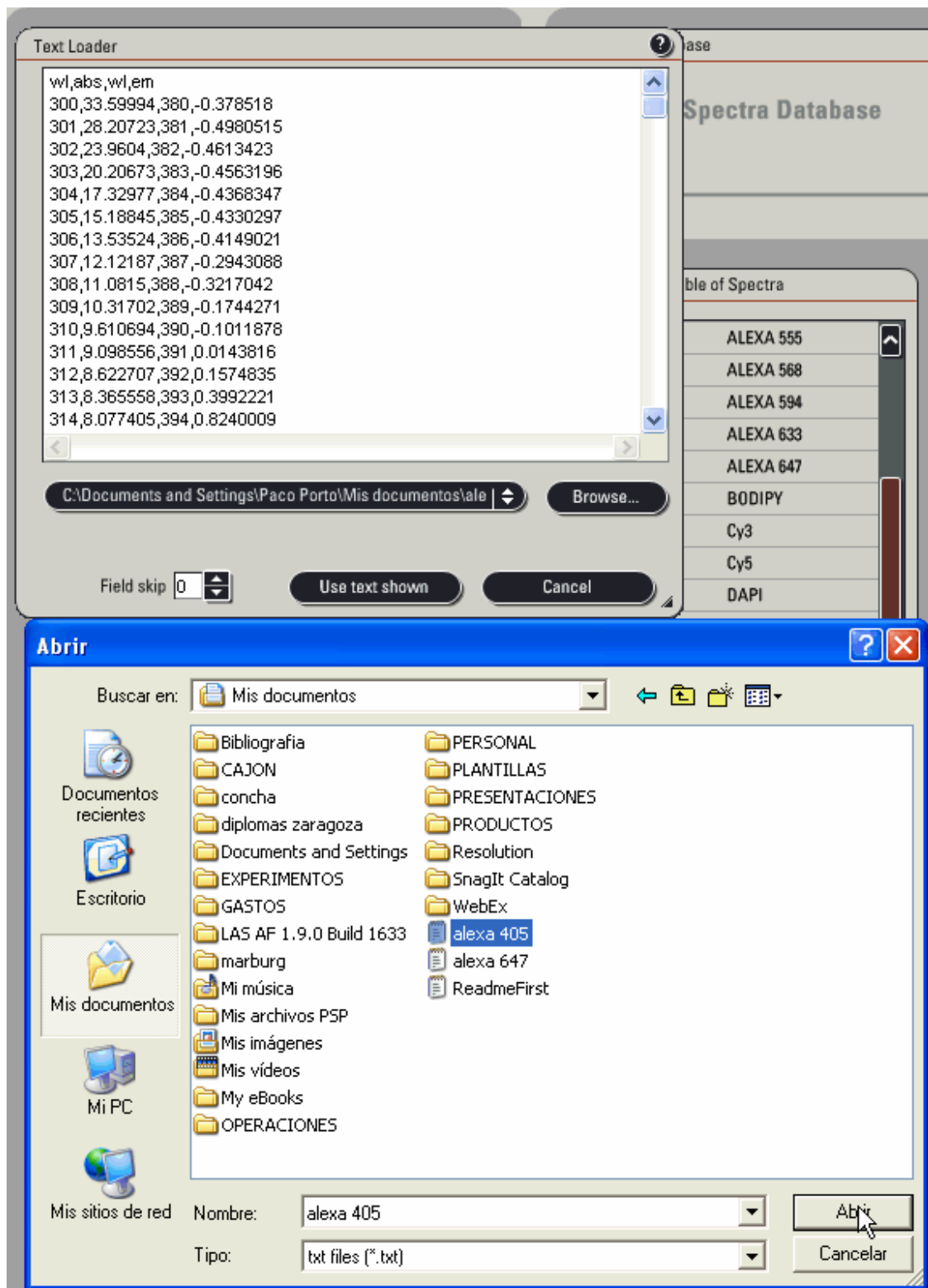
Abre LAS AF, ve a la pestaña de configuración y selecciona "Dyes". A continuación, en la pestaña "users" haz click con el botón derecho y selecciona "new" como se muestra en el recorte:



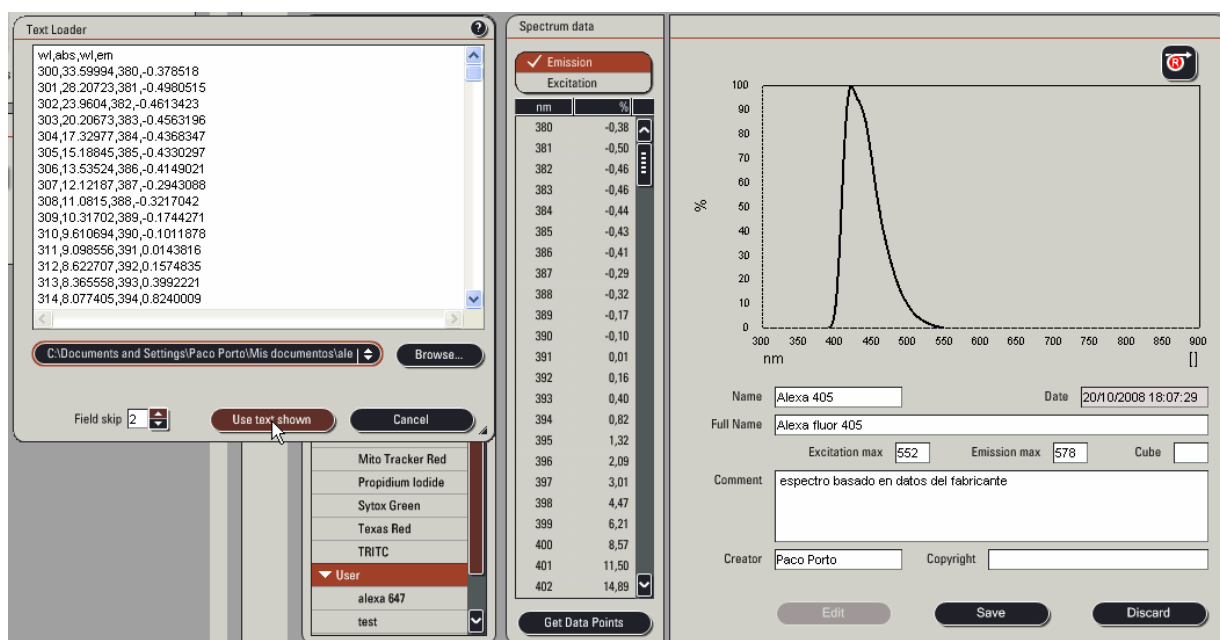
A continuación, en el recuadro correspondiente elije el nombre (Por ejemplo alexa 405) y puedes añadir el nombre del creador, la fecha, las longitudes de onda máxima y mínima etc.. Finalmente resalta "emission" y pincha "Get Data Points". Te saldrá en pantalla el cuadro "Text loader":



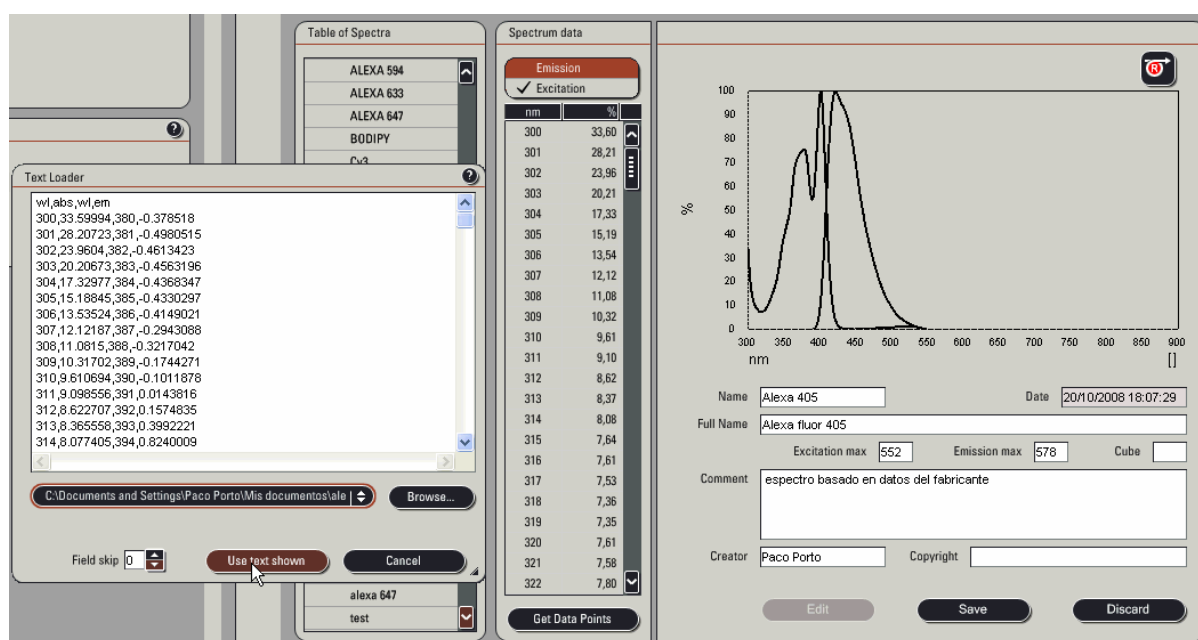
Selecciona "Browse" y busca el fichero que guardaste:



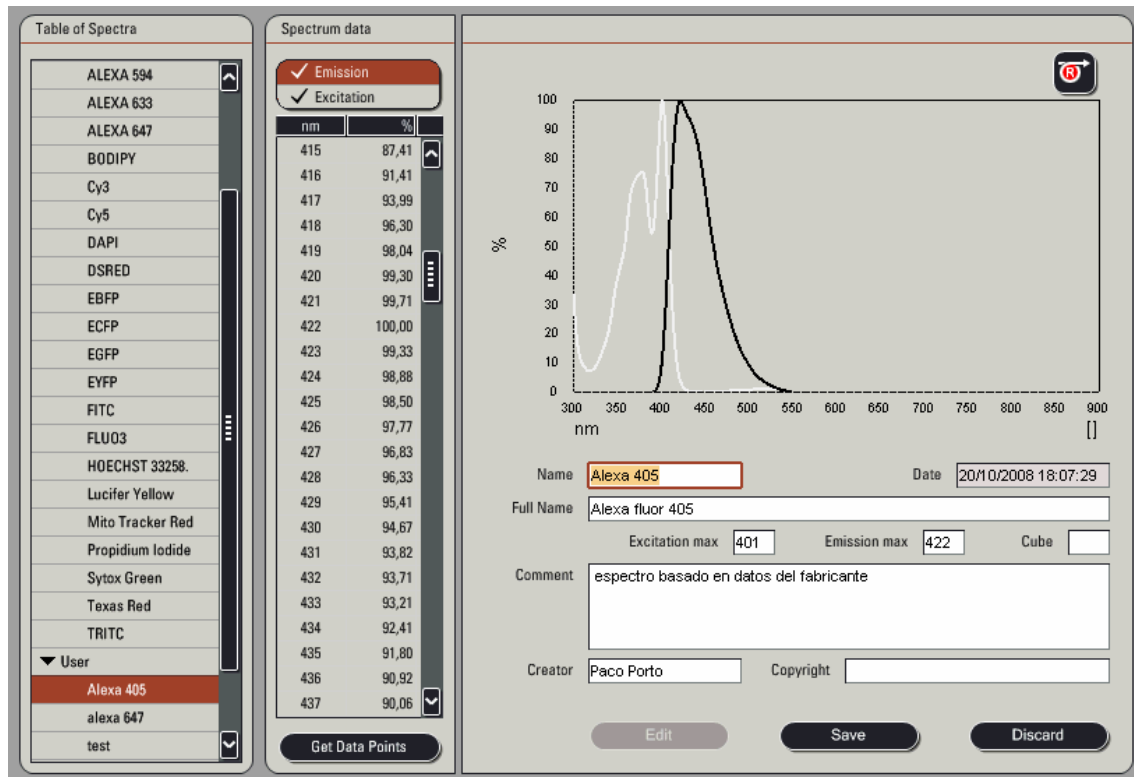
Los datos son cargados en la pantalla del "text loader". En este caso los datos están organizados en 4 columnas separadas por comas, la primera y segunda columna son para la excitación (longitud de onda y % relativo) y la tercera y cuarta para emisión (que es lo primero que debemos cargar). Por esta razón, donde pone "Field skip" seleccionaremos el valor 2, de forma que se prescindirá de las dos primeras columnas que corresponden a la excitación. A continuación pincha "Use text shown" y los datos de emisión son cargados automáticamente:



Ahora ya puedes buscar en la tabla de valores el valor máximo (el que tiene un % del 100%) y ponerlo en el cuadro "emission max". La excitación máxima puedes suponerla poniendo el valor del láser que utilizarás (405 nm), o bien cargarla de la tabla de datos (en este caso tienes que seleccionar "Emission", entonces "Get Data Points", cargar el mismo fichero y en Field skip poner un 0, como te muestro en la siguiente imagen:



Ahora ya hemos cargado tanto los valores de emisión como los de excitación, terminamos de poner los valores correctos en los cuadros de excitation max y emission max tomando los datos de las tablas del fabricante (los valores que tienen un 100%), salvamos con "save" y listo. El fluorocromo queda almacenado.



Agradecimientos :
Francisco Porto Gallego (Leica)